

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

J1046 U.S. PTO
09/863316
05/24/01

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 6月14日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-178776

出 願 人

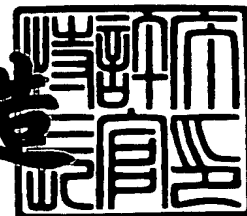
Applicant(s):

株式会社相生発酵
セーレン株式会社

2001年 5月11日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3037972

【書類名】	特許願
【整理番号】	GP1846
【提出日】	平成12年 6月14日
【あて先】	特許庁長官殿
【国際特許分類】	A61K 07/02
【発明の名称】	皮膚癌予防剤
【請求項の数】	3
【発明者】	
【住所又は居所】	愛知県西尾市下町丸山 5 番地 株式会社相生発酵内
【氏名】	金 宗鉉
【発明者】	
【住所又は居所】	愛知県西尾市下町丸山 5 番地 株式会社相生発酵内
【氏名】	村松 浩一郎
【発明者】	
【住所又は居所】	福井県福井市毛矢 1 丁目 1 0 番 1 号 セーレン株式会社 内
【氏名】	山田 英幸
【発明者】	
【住所又は居所】	福井県福井市毛矢 1 丁目 1 0 番 1 号 セーレン株式会社 内
【氏名】	不破 順清
【発明者】	
【住所又は居所】	三重県安芸郡河芸町南黒田 5 5 4
【氏名】	樋▲廻▼ 博重
【特許出願人】	
【識別番号】	593173138
【住所又は居所】	愛知県西尾市下町丸山 5 番地
【氏名又は名称】	株式会社相生発酵

【特許出願人】

【識別番号】 000107907

【住所又は居所】 福井県福井市毛矢 1 丁目 1 0 番 1 号

【氏名又は名称】 セーレン株式会社

【代理人】

【識別番号】 100079050

【氏名又は名称】 後藤 憲秋

【選任した代理人】

【識別番号】 100098752

【氏名又は名称】 吉田 吏規夫

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 034957

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【物件名】 委任状 1

【援用の表示】 平成 1 2 年 6 月 1 4 日提出の包括委任状提出書に添付の
包括委任状を援用する。

【包括委任状番号】 9703426

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 皮膚癌予防剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 セリシンを含有することを特徴とする皮膚癌予防剤。

【請求項 2】 セリシンがセリシンの加水分解物であることを特徴とする請求項 1 に記載の皮膚癌予防剤。

【請求項 3】 セリシンの重量平均分子量が 5 0 0 0 から 1 0 0 0 0 0 であることを特徴とする請求項 1 または請求項 2 に記載の皮膚癌予防剤。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

この発明は、天然のセリシンを原料に用い、安全性、安定性が高く、副作用がなく、医薬品、医薬部外品、健康食品、化粧品、化粧水などの分野で利用できる皮膚癌予防剤に関するものである。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

癌は死亡原因の第一位を占める病気であり、癌患者数は今後ますます増え続けることが予測されている。従って、癌を防ぐ予防法を見いだすことは極めて重要な課題である。癌予防には多種多様な方法が提案されているが、最近、癌の化学予防が注目されるようになってきた。

【0 0 0 3】

癌の化学予防とは、癌の発生および進展を化学物質の投与により防止し予防しようとする癌の一次予防である。動物実験で効果が確かめられている化学物質又は疫学的成績により効果があるものについて、ヒトでの介入試験が行われつつある。癌の化学予防物質は動物実験から検出されるが、動物による化学予防の研究は化学発癌モデルを用いて行われている。癌の発生には多段階の遺伝子変異が関与しているが、発癌はイニシエーションとプロモーションの 2 段階プロセスがある。従って、癌の化学予防剤には、癌の化学予防物質を動物化学発癌モデルのイニシエーション期に投与して発癌のイニシエーションを抑制するものと、プロモ

ーション期に投与して発癌のプロモーションを抑制するものがある。なお、癌予防剤は安全性に問題がなく、副作用がないことが条件になっていて、長期投与されることが通常である。

【 0 0 0 4 】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、上記の点に鑑みなされたもので、安全性及び安定性が高く、副作用がない皮膚癌予防剤の提供を目的とするものである。

【 0 0 0 5 】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、天然の繭タンパク質セリシンに注目し、セリシンが、低濃度で皮膚発癌プロモーションの抑制作用を示すことを見出し、本発明をするに至ったのである。すなわち、請求項 1 の発明は、セリシンを含有することを特徴とする皮膚癌予防剤に係る。

【 0 0 0 6 】

請求項 2 の発明は、セリシンがセリシンの加水分解物であることを特徴とする請求項 1 に記載の皮膚癌予防剤に係る。

【 0 0 0 7 】

また、請求項 3 の発明は、セリシンの重量平均分子量が 5 0 0 0 から 1 0 0 0 0 0 であることを特徴とする請求項 1 または請求項 2 に記載の皮膚癌予防剤に係る。

【 0 0 0 8 】

【発明の実施の形態】

この発明は、セリシン（セリシン加水分解物を含む）を有効成分とする天然の皮膚癌の予防剤である。本発明で用いるセリシンとしては通常、蚕が吐出する繭又は生糸から溶媒によって抽出したもの、あるいは、物理的に剥離したものが用いられる。

【 0 0 0 9 】

本発明で使用する蚕としては、人間に飼育されて生育する家蚕、および自然環境のなかで生育する野蚕等いずれでも使用可能であり、特別な種類に限定されな

い。繭は蛹が入っている状態のもの、または繭の一部を切開して蛹を取り出した状態のもの、若しくは粉碎処理したもの、または生糸についても製糸したもの、製織したもの、縫製したもの若しくは粉碎処理したものなどいずれも使用できる。

【0010】

上記材料からセリシンを得るための抽出溶媒としては、冷水、熱水、含水アルコール等の親水性溶媒が挙げられる。例えば、家蚕繭をその20～30倍量の熱水で数分間煮沸処理した後、ろ過、遠心分離などにより固形物を除去することにより行われる。抽出のための手段については特に限定されず、従来公知のものをはじめとして適宜のものが採用される。

【0011】

さらに得られた抽出液を分離精製することにより、重量平均分子量5000から100000である、特に優れた皮膚発癌プロモーション抑制作用を有するセリシンを得ることができる。その重量平均分子量が5000未満では、皮膚発癌プロモーション抑制作用が低下し、100000よりも大きい場合は、適宜用いられる製剤用担体、賦形剤、希釈剤等他の薬剤との混合性が良好ではないため、重量平均分子量5000から100000を有するセリシン（セリシン加水分解物を含む）が好ましく用いられる。

【0012】

ここで用いられる分離精製方法は、特に限定されたものでなく、例えば塩析、有機溶媒沈殿、ゲルろ過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、逆浸透、限外ろ過、超遠心分離、電気透析等の公知の方法を単独で、あるいは組み合わせで用いることができる。さらに、凍結乾燥、噴霧乾燥等により乾燥してもよい。

【0013】

このようにして得られた、優れた皮膚発癌プロモーション抑制作用を有するセリシンは高分子量であるが親水性が高く、冷水に易溶で他の薬剤との混合性が良く、かつ水溶液がゲル化せず、低粘度で取り扱いが容易であるなどの特徴をもつ。

【 0 0 1 4 】

本発明の皮膚発癌予防剤は、そのままあるいは適宜製剤用担体、賦形剤、稀釈剤等と混合し、粉末、顆粒、錠剤、カプセル、注射剤、ゲル状、スティック状、溶液状等の形態で、経口投与、腹空内投与、または静脈投与することができる。また、皮膚外用剤としての用途が可能である。皮膚外用剤の剤型としては、特に限定されるものではないが、例えば、クリーム、乳液、パック、化粧水、パウダーオイル、軟膏等が挙げられ、通常用いられる化粧料、医薬品等の原料からなる基剤に配合して使用することができる。食品に混合し、食品形態で所要量を摂取することも可能である。

【 0 0 1 5 】

セリシンは天然物由来であり、人体への安全性が高く、医薬品、医薬部外品、化粧品等、食品、健康食品、特定保険用食品などの特別用途食品等に添加することができるため、日常の生活において無理なく摂取することができる。その添加量は通常 0. 1 ～ 5 0 重量%、好ましくは 0. 5 ～ 5 重量%である。少量であっても、十分な効果を示すが、毒性が無く、水溶性にも優れるため多量に添加および摂取しても特段の問題は生じない。

【 0 0 1 6 】

【実施例】

以下本発明の具体的な実施例を説明する。

繭 1 0 0 g を、沸騰した蒸留水 5 0 0 m l に加え、1 時間煮沸した。室温で放置、冷却した後、ろ過して抽出液を得た。これをゲルろ過クロマトグラフィーにかけて、分子量 1 0 0 0 0 から 5 0 0 0 0 までの分画を分取し、凍結乾燥して、重量平均分子量 3 0 0 0 0 のセリシン固体を得た。さらに、このセリシン固体を蒸留水に 2. 5 % 濃度になるように溶解したもの（本発明の第 1 実施例）、および蒸留水に 5 % 濃度になるように溶解したもの（本発明の第 2 実施例）を得た。

【 0 0 1 7 】

このようにして得た前記第 1 実施例及び第 2 実施例のセリシン溶液を用いて、皮膚癌発生プロモーションの抑制作用を調べるために、以下の実験を行った。

【 0 0 1 8 】

(実験)

DDY系の8週令の雄マウスを5匹ずつからなる3組の群に分け、それぞれ対照群、実験群A、実験群Bとし、室温23℃、12時間間隔の明暗所で、水と飼料を与えて飼育した。対照群のマウスに対し、該マウスの背部皮膚の毛を剃ってから、皮膚発癌のイニシエーター（誘発剤）である7, 12-dimethylbenzen[α]anthracene (DMBA) をアセトンで溶かして、1匹あたり0.2 μmolのDMBAを前記マウスの背部皮膚に塗布した。2週間後に発癌プロモーターである12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) をアセトンで溶かして、1匹あたり10 nmolのTPAを週に3回、20週間、マウス皮膚の同部位に塗布して、マウス皮膚癌を発生させた（対照群）。

【0019】

前記対照群の実験と並行し、実験群Aのマウスと、実験群Bのマウスに対し、対照群と同様にしてDMBA、TPAを塗布し、さらにTPAの塗布毎に、TPAの塗布に続き実験群Aのマウス皮膚に対しては第1実施例の2.5%セリシン溶液を、実験群Bのマウス皮膚に対しては第2実施例の5%セリシン溶液を、それぞれ合計100 μlとなるよう、1週に3回、20週間に渡って塗布した。セリシンの合計塗布量は、実験群Aのマウスで2.5 mg、実験群Bのマウスで5 mgである。

【0020】

前記実験群Aについては、対照群と比較し、皮膚発癌プロモーションに対する本発明品（セリシン）によるマウス皮膚発癌の時間依存的抑制作用を調べた。マウス皮膚癌の発癌抑制率はマウスの皮膚に生じた直径2 mm以上のパピローマの数を測定して求めた。その結果を示す図1から明らかなように、DMBAおよびTPAのアセトン溶液のみを塗布した対照群では、最初のパピローマが第8週目に発生したが、第1実施例のセリシンを塗布した実験群Aでは第14週目になるまで最初のパピローマが発生しなかった。また、20週目におけるパピローマの数を比較した結果、実験群Aでは、対照群に比べてパピローマの発生が80%抑制されているのがわかる。このように、第1実施例の皮膚癌予防剤は、マウス皮膚

のパピローマ発生予防効果があることが判明した。

【0021】

また、マウス皮膚のパピローマ数に対するセリシンの濃度依存的な抑制作用を調べるため、20週目における前記第1実施群と第2実施群におけるパピローマの数を測定したところ、全塗布量5mgとなる実験群Bの方が全塗布量2.5mgとなる実験群Aよりもパピローマの数が少なかった。また、20週目における実験群Bを対照群と比較したところ、実験群Bでは100%抑制されていた。このことから、セリシン濃度（塗布量）が大になれば、マウス皮膚パピローマの発生予防効果がより高くなるのがわかる。

【0022】

以上のことから、本発明の皮膚癌予防剤の塗布により、マウス皮膚の発癌プロモーションを抑制できることが確認でき、本発明の皮膚癌予防剤が皮膚癌の発生を防ぐ機能があることが判明した。

【0023】

【発明の効果】

以上説明したように、本発明の皮膚癌予防剤によれば、セリシンを用いることにより、安全性と安定性が高く、副作用なく皮膚癌の発生を抑えることができ、しかも、長期間使用も可能である。

【0024】

また、本発明の皮膚癌予防剤は、医薬品、皮膚外用剤、医薬部外品、化粧品、化粧水などの広い分野で皮膚癌を予防する機能性素材として使用することができる。

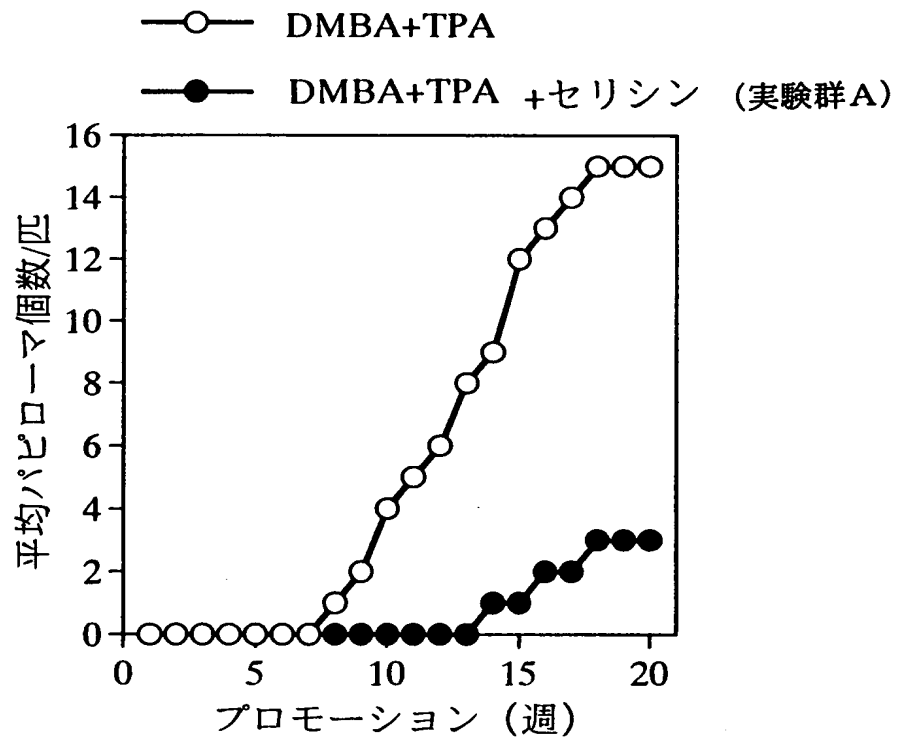
【図面の簡単な説明】

【図1】

本件発明の一実施例によるマウス皮膚パピローマ数の時間依存的な抑制作用を示すグラフである。

【書類名】 図面

【図1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 安全性および安定性が高く、しかも副作用がなく、皮膚癌の発癌プロモーションを抑制する皮膚癌予防剤を提供する。

【解決手段】 セリシンを含有することを特徴とする。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [593173138]

1. 変更年月日	1993年 8月20日
[変更理由]	新規登録
住 所	愛知県西尾市下町丸山5番地
氏 名	株式会社相生発酵

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000107907]

1. 変更年月日	1990年 8月30日
[変更理由]	新規登録
住 所	福井県福井市毛矢1丁目10番1号
氏 名	セーレン株式会社